



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Otorrinolaringologia

Surdez Mitochondrial

Ana Rita Rodrigues Bexiga

ABRIL'2019



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Otorrinolaringologia

Surdez Mitocondrial

Ana Rita Rodrigues Bexiga

Orientado por:

Dr. Marco Alveirinho Simão

ABRIL'2019

RESUMO

As mitocôndrias são organelos intracelulares presentes nas células eucarióticas. Apesar de serem principalmente reconhecidas pela produção de ATP, através da fosforilação oxidativa, estes organelos desempenham inúmeras funções, ao nível da apoptose e controlo do stress oxidativo. Desta forma, a disfunção mitocondrial compromete inúmeros aspetos da dinâmica celular. É este o mecanismo originário de diversas patologias, inclusivamente surdez. Estima-se que 2% dos casos de défice auditivo estejam associados a disfunção mitocondrial. A disfunção mitocondrial pode resultar em défice auditivo isolado (não-sindrómico) ou enquadrado num síndrome mitocondrial sistémico (sindrómico). A perda auditiva associada a disfunção mitocondrial é exclusivamente simétrica, neuro-sensorial e afeta primariamente as frequências mais elevadas, contudo poderá progredir para o envolvimento de todas as frequências. A mitocôndria contém o seu próprio genoma, o ADNmt, que é distinto do ADNn. As doenças mitocondriais podem resultar de mutações em genes nucleares que codifiquem proteínas mitocondriais ou mutações do ADNmt. Subsequentemente, o défice auditivo mitocondrial pode seguir um padrão mendeliano ou de hereditariedade materna, respetivamente.

Palavras Chave: Mitocôndria, Mutação, Disfunção Mitocondrial, Surdez, Hereditariedade Materna

O Trabalho de Final exprime a opinião do autor e não da FML

ABSTRACT

Mitochondria are intracellular organelles in eukaryotic cells. They are mainly responsible for ATP production by oxidative phosphorylation, but also have a series of specific functions, including apoptosis and oxidative stress control. Therefore, mitochondrial dysfunction, compromises several aspects of cellular dynamic, and can lead to a range of diseases, including hearing loss. It is estimated that 2% of the hearing loss cases are related with mitochondrial dysfunction. Mitochondrial dysfunction is a cause of hearing loss both in isolation (non-syndromic) and as a feature of systemic mitochondrial disease (syndromic). The hearing loss of mitochondrial disease is exclusively symmetrical, sensorineural and primarily affects the higher frequencies, although progressive disease can lead to pan-frequency hearing loss. Mitochondria maintain their own genome, the mtDNA, which remains distinct from nuclear genome. This means mitochondrial disease can result from mutation in nuclear genes encoding mitochondrial proteins or from mutation of mtDNA. Subsequently, mitochondrial hearing loss can be inherited following either a mendelian or maternal inheritance pattern.

Keywords: Mitochondria, Mutation, Mitochondrial Dysfunction, Deafness, Maternal Inheritance

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	6
SÍMBOLOS E ACRÓNIMOS	7
A MITOCÔNDRIA E A SUA FUNÇÃO	8
GENOMA MITOCONDRIAL.....	9
GENÉTICA MITOCONDRIAL	9
DOENÇAS MITOCONDRIAS	13
SURDEZ MITOCONDRIAL	14
SURDEZ MITOCONDRIAL POR DEFEITOS DO ADN NUCLEAR.....	14
SURDEZ MITOCONDRIAL SINDRÓMICA POR DEFEITOS DO ADN MITOCONDRIAL	15
SURDEZ MITOCONDRIAL NÃO SINDRÓMICA POR DEFEITOS DO ADN MITOCONDRIAL	18
AGRADECIMENTOS	23
BIBLIOGRAFIA	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Tabela 1. Mutações mitocondriais associadas a défice auditivo	21
--	----

SÍMBOLOS E ACRÓNIMOS

% - Percentagem

µm - Micrómetro

ATP – Adenosina Trifosfato

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

ADNmt – ADN mitocondrial

ADNn – ADN nuclear

ARNt – Ácido Ribonucleico de Transferência

ARNr – Ácido Ribonucleico Ribossómico

EROs – Espécies Reativas de Oxigénio

NOHL – Neuropatia Óptica Hereditária de Leber

KSS – Síndrome de Kearns-Sayres

MELAS – *Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis, and Stroke like episodes*

MERRF – *Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers*

AR – Autossómico Recessivo

AD – Autossómico Dominante

SDM – Síndrome de Depleção do ADN Mitocondrial

OPE – Oftalmoplegia Progressiva Externa

AVC – Acidente Vascular Cerebral

MIDD – *Maternally Inherited Diabetes and Deafness*

EO – Exame Objetivo

HC – História Clínica

DPOAEs – Emissões Otoacústicas por Produto de Distorção

INTRODUÇÃO

A perda auditiva constitui um dos défices sensoriais mais frequentes, afetando aproximadamente 120 milhões de pessoas em todo o mundo (1). Atualmente, conhecem-se mais de 30 loci responsáveis por este défice, 70% dos quais causam perda auditiva não síndrómica e os restantes, perda auditiva síndrómica (2). A surdez divide-se em quatro tipos, autossómica dominante, autossómica recessiva, ligada ao X, e mitocondrial. Estima-se que entre 75-80% dos défices auditivos sejam autossómicos recessivos, 10-20% autossómicos dominantes, 1-5% ligados ao X, e 2% mitocondriais (2).

A surdez pode ser caracterizada pela idade de aparecimento, a origem do defeito, e a associação ou não, de sintomas acompanhantes. De acordo com a idade, a surdez é dividida em pré-lingual ou surdez congénita e pós-lingual ou surdez tardia. Em relação à origem, poderá ser surdez de condução, caso haja envolvimento do ouvido externo ou médio, surdez neuro-sensorial, quando há envolvimento do ouvido interno ou nervo e córtex auditivo, e surdez mista, caso haja surdez de condução e neuro-sensorial concomitantemente. No que se refere à presença ou não de sintomas acompanhantes, designa-se por surdez síndrómica e não síndrómica, respetivamente (3).

Este trabalho tem como objetivo fazer uma revisão acerca das mutações mitocondriais e nucleares, que se associam a surdez síndrómica e não síndrómica. Para uma melhor compreensão, considerou-se relevante fazer um sumário inicial de alguns conceitos básicos de genética mitocondrial.

A MITOCÔNDRIA E A SUA FUNÇÃO

As mitocôndrias são organelos intracelulares presentes nas células eucarióticas. Apesar de serem principalmente reconhecidas pela produção trifosfato de adenosina (ATP) através da fosforilação oxidativa, estes organelos desempenham inúmeras funções, ao nível da apoptose e controlo do stress oxidativo (4,5). Elas produzem o seu próprio ADN, conhecido por ADNmt, que codifica determinados componentes essenciais da cadeia respiratória mitocondrial e sistema de produção de proteínas. As mitocôndrias têm uma dimensão aproximada de 0.5-1 µm e são rodeadas por duas membranas (6,7). O espaço dentro da membrana interna chama-se matriz e armazena diversas enzimas, outras

proteínas, ribossomas, ARNt, e moléculas de ADNmt. Cada célula contém centenas de mitocôndrias e cada mitocôndria contém 3 a 10 moléculas de ADNmt. O total de ADNmt numa célula somática nucleada constitui, sensivelmente, 0.5% do total de ADN dessa célula (2,5). As 13 proteínas codificadas pelo ADNmt e, aproximadamente, 60 proteínas nucleares formam, no seu conjunto cinco complexos enzimáticos que constituem a cadeia respiratória, na qual se forma um gradiente eletroquímico, através da transferência de eletrões, com o objetivo final de criar ATP (5,8).

O GENOMA MITOCONDRIAL

O ADNmt humano é uma molécula circular, de dupla hélice, que codifica 13 subunidades proteicas, 2 ARN ribossomais (ARNr), e 22 ARN de transferência (ARNt) (9).

GENÉTICA MITOCONDRIAL

Mutações

O papel das mutações no ADNmt em fenótipos de doenças mitocondriais tem sido reconhecido desde há muitas décadas (10). A maioria das alterações do ADNmt descritas são polimorfismos neutros. As primeiras mutações do ADNmt foram identificadas na década de 80. Estas podem ser herdadas (constitucionais) ou adquiridas (somáticas) (11). Desde então, foram identificadas centenas de variantes patogénicas no ADN mitocondrial, associadas a uma grande heterogeneidade de fenótipos, com idade de início variável. As alterações patogénicas do ADNmt são classificadas em mutações pontuais, rearranjos, nomeadamente, deleções, duplicações, inserções, isoladas, e diminuição do número de cópias de ADN, isto é, depleção (12). As mutações pontuais são, geralmente, herdadas, e são principalmente heteroplásmicas. Estas podem originar substituições de aminoácidos ou afetar a proteína, ARNt ou ARNr. A maioria das mutações relacionadas com doenças mitocondriais está localizada dentro de genes do ARNt (13). Os rearranjos são, habitualmente, alterações somáticas e heteroplásmicas. As mutações em genes

nucleares que codificam componentes estruturais da cadeia respiratória mitocondrial podem levar a fenótipos clínicos semelhantes às mutações do ADNmt. No entanto, estas mutações seguem uma transmissão mendeliana, em vez de um padrão de herança materna (14).

Taxa mutacional

Com o envelhecimento, as células acumulam inúmeras mutações adquiridas do ADNmt. Isto deve-se ao elevado número de moléculas de ADNmt presente em cada célula (mais de 100 cópias), tornando a taxa mutacional mitocondrial pelo menos 10 vezes superior à nuclear e ao facto dos mecanismos de reparação do ADNmt serem menos desenvolvidos em relação ao núcleo (15,16). Adicionalmente, o ADNmt é suscetível não só a fatores ambientais, tal como o ADNn, mas também a danos oxidativos por parte das EROs, na medida em que se encontra fisicamente perto do sistema de fosforilação oxidativa (17). Assim, mutações do ADNmt resultam numa deficiente fosforilação oxidativa, produzindo mais EROs em relação a mitocondriais normais, que por sua vez, geram mutações adicionais do ADNmt e mais EROs – teoria do ciclo vicioso (18).

Heteroplasmia e Homoplasmia

Como foi referido anteriormente, cada mitocôndria contém diversas cópias de ADNmt (2). Se uma célula apresentar uma coleção uniforme de moléculas de ADNmt, independentemente de serem wild-type ou mutadas, diz-se homoplásmica (8). Heteroplasmia corresponde à presença de ADNmt wild-type e mutado concomitantemente (8). Geralmente, mutações patogénicas são heteroplásmicas, enquanto que os polimorfismos neutros do ADNmt são homoplásmicos. Presentemente, conhece-se um número reduzido de doenças mitocondriais causadas por mutações mitocondriais homoplásmicas: Neuropatia Óptica Hereditária de Leber (NOHL) e a Surdez Não-Sindrómica associada à mutação A1555G (5). Porém, é possível que síndromes mitocondriais multisistémicos sejam incompatíveis com a vida, no estado de homoplasmia. Assim, na grande maioria das doenças causadas por uma mutação do

ADNmt, existe uma população heteroplásmica de ADNmt. A carga mutacional necessária ao aparecimento de manifestações clínicas, é conhecida como threshold (8). Desta forma, o threshold representa a proporção de ADNmt mutado, a partir do qual não é possível existir compensação do ADNmt wild-type, surgindo doença clínica (19). A segregação replicativa, na qual um pequeno número de mitocôndrias de origem materna é, aleatoriamente, selecionado durante a oogénese, explica a diferente carga de ADNmt mutado em diferentes oócitos (8). Durante a divisão celular, o ADNmt replicado é distribuído aleatoriamente pelas mitocôndrias, que por sua vez, serão aleatoriamente distribuídas pelas células filhas (8). Consequentemente, cada célula filha poderá ter diferentes proporções de ADNmt wild-type e mutado. Neste contexto, uma progenitora pode apresentar sintomatologia relativamente benigna ou não apresentar, de todo, sintomas, e o seu filho poderá vir a desenvolver sintomatologia clínica intensa. A expressão clínica será determinada pela proporção relativa de ADNmt normal e mutado presente nas células dos diferentes tecidos.

Patogenicidade

Como foi referido anteriormente, o ADN mitocondrial está sujeito a mutações somáticas que ocorrem espontaneamente ao longo da vida, sendo que correspondem, na sua maioria, a polimorfismos neutros sem relevância clínica. Assim, de forma a verificar a patogenicidade de uma determinada mutação do ADNmt, foi estabelecido um conjunto de regras canónicas (20). Primeiro, a mutação não deverá estar presente na população saudável do mesmo grupo étnico. Segundo, deverá envolver uma região do ADNmt conservada ao longo do tempo e, portanto, funcionalmente relevante. Terceiro, deverá resultar num défice enzimático ao nível da fosforilação oxidativa. Quarto, deverá existir uma correlação entre o grau de heteroplasmia e a gravidade do fenótipo (20). Não obstante, o último critério é questionável, uma vez que, normalmente não há uma correlação clara (21,22). Consequentemente, determinar a patogenicidade de uma variação do ADNmt pode ser extremamente difícil.

Herança materna

O ADN destes organelos é herdado através de um padrão não-mendeliano. Presentemente, é aceite que o ADNmt é transmitido somente pelas mitocôndrias do oócito (23). Este padrão de transmissão é geralmente referido como hereditariedade maternal. As mitocôndrias de origem paternas são de alguma forma eliminadas, não sendo transmitidas aos descendentes (23). Existem diversas explicações para este mecanismo de transmissão maternal. Por um lado, esta pode estar relacionada com o maior número de mitocôndrias presentes no oócito em relação espermatozoide. Desta forma, verifica-se um fenómeno de diluição resultante do excesso de mitocôndrias presentes no oócito comparativamente ao espermatozoide (24). Por outro lado, as mitocôndrias pertencentes à linhagem paterna que possam ser introduzidas no oócito são destruídas, por atividade proteolítica endógena durante a embriogénese uma vez que, o ADNmt paterno está marcado para destruição por ubiquitinação (23,25). Desta forma, as mitocôndrias paternas parecem desaparecer numa fase inicial da embriogénese por seleção, por inativação, ou simplesmente pela diluição pelo maior número de mitocôndrias presentes do oócito.

Variação fenotípica

Uma vez que todos os genes mitocondriais têm como principal função gerar energia através da fosforilação oxidativa, poderia ser expectável que todas as mutações do ADNmt resultassem num fenótipo semelhante. No entanto, as doenças mitocondriais caracterizam-se por uma elevada variação fenotípica, tanto inter, como intrafamiliar (5). As mutações mitocondriais podem gerar doenças multissistémicas, como os síndromes SKS, MELAS e MERRF, ou fenótipos extremamente específicos limitados a um só órgão, como NOHL e a Surdez Não-Sindrómica. Neste contexto, poderia colocar-se a hipótese de os músculos oculares (NOHL) e cóclea (Surdez Não-Sindrómica) terem um threshold para a fosforilação oxidativa menor em relação aos restantes tecidos e, portanto, serem afetados mais precocemente. Porém, esta hipótese é extremamente improvável uma vez que, implicaria que a NOHL e a Surdez Não-Sindrómica fossem características obrigatórias de todas as doenças mitocondriais, o que não se verifica. O conceito de heteroplasmia pode explicar esta abundante variedade. Contudo, a fraca relação

genotípica-fenotípica é explicada, em parte, pelo facto de o genótipo mutante ser limitado ao achado de uma única mutação do ADNmt, num meio dinâmico de mutações não detetadas do ADNmt e ADNn (5).

Modelo multifatorial

As doenças mitocondriais são o paradigma da hereditariedade multifatorial. As mutações do ADNmt e ADNn despoletam uma cascata de reações que envolvem desregulação da fosforilação oxidativa, apoptose e produção de EROs, levando à geração de mutações adicionais adquiridas do ADNmt ou expansão clonal de mutações hereditárias do ADNmt. Fatores ambientais (dieta, fatores tóxicos, entre outros) poderão contribuir para a progressiva disfunção mitocondrial com a idade, resultando no aparecimento tardia de doença clínica.

DOENÇAS MITOCONDRIAIS

Atualmente, acredita-se que a patogénese de diversas doenças envolverá disfunção mitocondrial. As doenças mitocondriais podem dever-se a mutações num dos 60 genes nucleares ou num dos 37 genes mitocondriais que codificam proteínas mitocondriais. Uma vez que, todos os genes mitocondriais codificam proteínas envolvidas na fosforilação oxidativa, todas as doenças causadas por mutações no genoma mitocondrial são caracterizadas, principalmente, por fosforilação oxidativa deficiente. Na maioria dos casos, esta disfunção leva a doenças multisistémicas. Por outro lado, os genes nucleares que codificam proteínas mitocondriais, não só codificam proteínas envolvidas na fosforilação oxidativa, como também proteínas responsáveis pela formação de EROs, apoptose, e integridade, estabilidade e replicação do genoma mitocondrial (5). Desta forma, mutações em genes nucleares comprometem diversos aspetos da fisiologia celular, pelo que, o espectro de doenças genéticas mitocondriais provocadas por mutações nestes genes, é extraordinariamente vasto. Assim, as doenças mitocondriais podem ser causadas por defeitos moleculares no genoma mitocondrial, no nuclear, ou em ambos. A hereditariedade das doenças mitocondriais pode ser nuclear, nomeadamente, autossómica

dominante (AD), autossômica recessiva (AR), ligada ao X, ou mitocondrial. Porém, a maioria é autossômica recessiva (AR).

SURDEZ MITOCONDRIAL

A disfunção mitocondrial pode resultar em défice auditivo isolado (não-sindrómico) ou enquadrado num síndrome mitocondrial sistémico (sindrómico). As células do eixo sensorial auditivo, incluindo células ciliadas cocleares, estria vascular e neurónios auditivos, são metabolicamente ativas e portanto, enriquecidas em mitocôndrias. Inicialmente, acreditava-se que a perda de células ciliadas cocleares internas e externas, seria o mecanismo originário da doença (28,29). No entanto, recentemente percebeu-se que a neuropatia auditiva também estará associada ao aparecimento de défice auditivo mitocondrial (30).

A perda auditiva associada a disfunção mitocondrial é exclusivamente simétrica, neuro-sensorial e afeta, primariamente, as frequências mais elevadas, contudo poderá progredir para o envolvimento de todas as frequências.

SURDEZ MITOCONDRIAL POR DEFEITOS DO ADN NUCLEAR

É importante distinguir dois tipos de genoma, nomeadamente o genoma nuclear e o genoma mitocondrial. Os genes nucleares contribuem para a manutenção do ADNmt. Assim, mutações em genes nucleares responsáveis pela síntese de nucleótidos mitocondriais (*TK2*, *SUCLA2*, *SUCLG1*, *RRM2B*, *GUOK* e *TYMP*) ou na replicação do mtDNA (*POLG* e *C10orf2*), causam redução do número de moléculas do ADNmt, comprometendo a fisiologia normal da mitocôndria (31). Estas mutações representam um grupo de doenças autossômicas recessivas, conhecido por Síndrome de Depleção do ADN Mitocondrial (SDM). Trata-se de um síndrome clinicamente heterogéneo, podendo apresentar-se sob três categorias clínicas: hepatocerebral, miopática e encefalomiopática (31).

A forma encefalomiopática é a única que cursa com défice auditivo e está associada a mutações em diversos genes, nomeadamente *SUCLA1*, *SUCLG1* e *RRM2B*. É autossômica recessiva com uma penetrância variável (31). O aparecimento dos

sintomas ocorre na infância, e manifesta-se por surdez, hipotonia muscular, atraso psicomotor grave, deterioração neurológica progressiva, perda de movimentos voluntários, oftalmoplegia externa, convulsões generalizadas e variável disfunção tubular renal. Verifica-se um aumento do lactato sanguíneo e, na ressonância magnética cerebral, podem-se observar lesões nos gânglios basais sugestivas de síndrome de Leigh (8).

No geral, o SDM tem um mau prognóstico. Atualmente, não há terapêutica eficaz disponível para nenhuma das três apresentações clínicas, pelo que o tratamento é somente sintomático.

SURDEZ MITOCONDRIAL SINDRÓMICA POR DEFEITOS DO ADN MITOCONDRIAL

Surdez por rearranjos no ADN mitocondrial

Os síndromes de deleção em larga escala do ADNmt incluem três apresentações clínicas clássicas. Síndrome de Pearson, Síndrome de Kearns-Sayres (SKS) e oftalmoplegia progressiva externa (OPE), no entanto, importa ressaltar que também podem incluir outros sintomas multisistémicos não presentes nestas síndromes (8).

O Síndrome de Pearson caracteriza-se por anemia sideroblástica refratária e disfunção exócrina do pâncreas. É frequentemente fatal na infância e acredita-se que as crianças sobreviventes poderão vir a apresentar o SKS (8).

O Síndrome de Kearns-Sayres surge habitualmente na segunda década de vida, com manifestações de oftalmoplegia progressiva externa, ptose, retinopatia pigmentar, surdez, ataxia, miopatia, insuficiência renal, envolvimento cardíaco (cardiomiopatia), e endócrino (diabetes e hipoparatiroidismo) (32,33).

A oftalmoplegia progressiva externa (OPE) pode manifestar-se em qualquer idade sem a presença de outras características do KSS, e é geralmente considerado benigna (8).

A confirmação diagnóstica inclui um teste de genética molecular ao ADNmt, que apresenta uma deleção entre 1.1 a de 10kb. As deleções são detetáveis na urina e sangue das crianças afetadas. Nos adultos poderá ser necessária uma biópsia muscular (33).

O tratamento é sintomático e dirigido às diversas apresentações, recomenda-se vigilância cardíaca e endócrina, e o uso de anti-oxidantes pode eventualmente ser útil. A evicção de fármacos tóxicos mitocondriais, como o valproato de sódio, aminoglicosídeos, cloranfenicol e inibidores da transcriptase reversa, é fundamental (33).

Surdez por mutação pontual no ADN mitocondrial

As mutações pontuais do ADNmt associadas a doença clínica são geralmente hereditárias e devem-se a mutações missense patogénicas no ADNmt, ARNt ou ARNr (34). Estas doenças são conhecidas pelas suas apresentações clínicas e o conjunto das manifestações clínicas resulta na sua nomenclatura, v.g., encefalomiopatia mitocondrial, acidose láctica e episódios semelhantes a acidente vascular cerebral (MELAS – mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke like episodes) e epilepsia mioclónica associada a fibras vermelhas (MERRF – myoclonic epilepsy with ragged red fibers) (34).

O síndrome de MELAS está maioritariamente relacionado com a variante patogénica m.3243A>G no gene mitocondrial *MT-TL1*, estimando-se que 80% dos casos se devam a esta substituição. No entanto, outras variantes patogénicas neste gene, nomeadamente m.3271T>C, e noutros genes mitocondriais como, *MT-ND1*, *MD-ND5*, *MT-TH* e *MT-TV* também estão associadas a MELAS (35). A vasta maioria dos indivíduos afetados desenvolve sintomas entre os 2 e 40 anos. As primeiras manifestações clínicas incluem, atraso do crescimento, convulsões generalizadas tónico-clónicas, enxaquecas e vômitos recorrentes. Posteriormente, surgem episódios semelhantes a AVC, com progressivo comprometimento das capacidades cognitivas e motoras, intolerância a atividade física, défice auditivo, neuropatia periférica e demência. Durante os episódios semelhantes a AVC, os exames de imagem revelam áreas hiperintensas em T2, o que não corresponde à clássica distribuição vascular, daí a nomenclatura “episódios semelhantes a AVC” (8,36).

O diagnóstico é estabelecido quando os critérios de diagnóstico clínico estão presentes e se identifica uma variante patogénica num dos genes associados a MELAS por testes moleculares genéticos. A elevação do ácido láctico é um parâmetro bioquímico frequente e as biópsias musculares revelam rotura das fibras vermelhas.

O tratamento é sintomático e recomenda-se a avaliação multidisciplinar periódica por otorrinolaringologia, neurologia, cardiologia e endocrinologia.

O síndrome de MERRF está associado a mutações nos genes mitocondriais *MT-TK*, *MT-TL1*, *MT-TH* e *MT-TS1* (8). A variante patogénica m.8344A>G no gene *MT-TK* é responsável por 80% dos casos de MERRF, alterando a molécula de ARNt^{Lis} (37). O diagnóstico clínico baseia-se em três características canónicas, convulsões mioclónicas que posteriormente generalizam, ataxia e visualização na biópsia muscular de fibras vermelhas musculares com rotura. Adicionalmente, observa-se défice auditivo, miopatia, neuropatia periférica e demência em mais de metade dos casos (37).

A acidémia láctica é frequente e as observa-se rotura das fibras musculares vermelhas na biópsia (37). O tratamento é sintomático e recomenda-se vigilância clínica multidisciplinar, tal como no síndrome MERRF (8).

Adicionalmente, ainda na categoria das causas de surdez por mutações pontuais do ADN mitocondrial, encontramos a associação diabetes mellitus por hereditariedade materna e surdez neurosensorial (MIDD - maternally inherited diabetes and deafness) (38). Importa, no entanto, referir que, apesar de esta associação estar mais frequentemente relacionada com mutações pontuais no genoma mitocondrial, razão pela qual figura nesta categoria, também pode estar associada a rearranjos. Estima-se que a variante patogénica m.3243A>G no gene *MT-TL1*, responsável por alterar a molécula de ARNt^{Leu}, frequentemente associada a MELAS, também esteja na origem de 85% dos casos de MIDD. Noutras famílias com MIDD estão descritas as variantes m.14709T>C no gene *MTTE* e m.8296A>G no gene *MT-TK* que codificam as moléculas de tRNA^{Glu} e tRNA^{Lis}, respetivamente (5,39). Apesar de originalmente, o MIDD ter sido descrito como um síndrome com envolvimento exclusivo do ouvido e pâncreas, verificou-se, posteriormente, que na verdade é um síndrome multissistémico (40). As manifestações típicas são défice auditivo e diabetes tipo 2, que progride para a dependência de insulina com a idade, no entanto, a expressão fenotípica pode também englobar, maculopatia, miopatia, cardiomiopatia, encefalopatia e doença renal (5). O défice auditivo é variável, neurosensorial, bilateral, progressivo e mais profundo nas frequências mais elevadas.

O diagnóstico é sugerido pelo fenótipo e confirmado pela identificação de uma variante patogénica, através de testes genéticos moleculares.

O tratamento é sintomático. Estão indicados antidiabéticos orais e/ou insulina para o controlo da diabetes e implantes cocleares para o défice auditivo. O tratamento deverá ser instituído precocemente, uma vez que poderá evoluir para síndrome de MELAS.

SURDEZ MITOCONDRIAL NÃO-SINDRÓMICA POR DEFEITOS DO ADN MITOCONDRIAL

Apesar de estarem descritas diversas variantes patogénicas responsáveis por perda auditiva e surdez não-sindrómica mitocondrial, neste tópico falar-se-á de duas regiões mutacionais “hot spot”, o gene *MT-RNR1* e *MT-TS1*, que codificam as moléculas ARNr 12S e ARNr^{Ser(UCN)}, respetivamente.

Deve-se suspeitar de défice auditivo e surdez não-sindrómica mitocondrial, quando num indivíduo, se observam as seguintes características: perda auditiva moderada a profunda, perda auditiva para altas frequências ligeira a moderada, ausência de outros sinais e sintomas no EO e HC, história familiar de défice auditivo sugestivo de hereditariedade materna e associação do aparecimento deste défice sensorial com a administração de antibióticos aminoglicosídeos (41).

O diagnóstico é estabelecido num indivíduo que apresente os achados sugestivos referidos acima e seja portador de uma das variantes patogénicas num dos genes associados a défice auditivo e surdez não-sindrómica mitocondrial, por testes genéticos moleculares.

O tratamento inclui reabilitação com próteses auditiva e terapia da fala. Deverá avaliar-se a possibilidade de implantação coclear (42). No caso de indivíduos com audição residual para baixas frequências, está indicada a estimulação eletro-acústica (43).

Perda auditiva relacionada com o gene MT-RNR1

Presentemente, conhecem-se diversas mutações no gene *MT-RNR1* associadas a perda auditiva não-sindrómica, a qual na maioria dos casos é induzida ou agravada pela ototoxicidade aminoglicosídea (5).

A perda auditiva relacionada com a ototoxicidade dos aminoglicosídeos, ocorre alguns dias após a administração de qualquer dose, inclusivamente doses únicas, de antibiótico aminoglicosídeo como a gentamicina, tobramicina, amicacina, canamicina ou estreptomicina (1). O défice auditivo está associado com a variante patogénica m.1555A>G e resulta da perda de células ciliadas cocleares (44). A perda auditiva é bilateral e profunda e uma vez instalada é irreversível, mas não é progressiva (45). Sintomas vestibulares não são comuns (46). A ototoxicidade a aminoglicosídeos secundária à presença de uma variante patogénica de ADNmt predisponente é, como foi referido, independente da dose em contraste com a ototoxicidade aminoglicosídeo dose-dependente, a qual está relacionada com a concentração plasmática do antibiótico em indivíduos que não apresentam uma variante patogénica de ADNmt predisponente (41).

A perda auditiva neurosensorial independente da exposição a aminoglicosídeos também está relacionada com a variante patogénica m.1555A>G (41). A gravidade do quadro nestes indivíduos varia desde surdez profunda congénita a perda auditiva moderada progressiva. Geralmente, em sujeitos com perda auditiva ligeira a moderada, esta é para altas frequências (41). Atualmente acredita-se que o nível de heteroplasmia da variante m.1555A>G, está correlacionado com a penetrância do défice auditivo (47). Diversos indivíduos com perda auditiva progressiva apresentam episódios de acufenos (41). Sintomas vestibulares são raros (41). Numa reduzida percentagem de indivíduos com a variante m.1555A>G que não desenvolveram défice auditivo, foram encontrados achados subclínicos de uma menor amplitude de resposta a emissões otoacústicas por produto de distorção (DPOAEs), o que indica algum grau de disfunção coclear (44). É relevante referir que, apesar de a perda auditiva associada ao *MT-RNR1* ser considerada não sindrómica, constatou-se a associação de outros sintomas, nomeadamente, alterações neurológicas e pigmentares numa família com a mutação m.1555A>G (48).

A maioria das variantes patogénicas m.1555A>G do gene *MT-RNR1* ocorre em homoplasmia.

A penetrância de défice auditivo nos sujeitos portadores desta substituição com história de administração de antibióticos aminoglicosídeos é de 100%, ou seja, qualquer indivíduo com esta variante a quem seja administrado um aminoglicosídeo, ficará surdo, independentemente da dosagem (49). Por outro lado, a penetrância de défice auditivo nos indivíduos portadores desta mutação sem antecedentes de exposição a estes antibióticos varia entre 0-65% (50–52).

Ao longo dos anos, têm sido descritos globalmente diversos casos de défice auditivo associado à mutação m.1555A>G do gene *MT-RNR1*, v.g., em Israel, Japão, Mongólia, Espanha, China, Tunísia, Marrocos, Grécia, Polónia e América. A prevalência desta substituição varia entre grupos populacionais (53).

Perda auditiva relacionada com o gene MT-TS1

O gene mitocondrial *MT-TS1* está relacionado, tanto com perda auditiva não síndrómica, como síndrómica. Diversas variantes do mesmo foram associadas a perda auditiva não-sindrómica em múltiplas famílias.

Uma dessas variantes patogénicas é a m.7445A>G. O quadro de défice auditivo instala-se durante a infância e a gravidade do mesmo varia de moderado a grave. A progressão da gravidade do quadro é característica (45). Num pequeno grupo populacional, esta substituição foi associada à combinação de perda auditiva e queratoderma palmoplantar (41).

A mutação m.7471dupC, previamente descrita como m.7472insC, foi identificada como responsável por perda auditiva não-sindrómica em várias famílias, e pela combinação de défice auditivo, ataxia e mioclonias, num único indivíduo (41,54).

A variante patogénica m.7444G>A localizada na fronteira entre os genes *MT-CO1* e *MT-TS1* associa-se, igualmente, a perda auditiva não-sindrómica e perda auditiva relacionada com a ototoxicidade dos aminoglicosídeos (55,56).

As variantes patogénicas do gene *MT-TS1* podem existir em homoplasmia ou heteroplasmia, desta forma a gravidade do défice auditivo e idade de instalação do quadro varia consoante a carga mutacional do portador (41).

A prevalência de mutações patogénicas é de 0.8-1.1% em indivíduos surdos dos Estados Unidos da América e Mongólia, e 0.68% em sujeitos surdos chineses (57,58). A prevalência da substituição m.7445A>G é de 0.86% e 0.4% em indivíduos com défice auditivo dos EUA e Polónia, respetivamente (45,56). Esta variante não foi encontrada entre indivíduos de origem Grega ou Chinesa (59,60).

Tabela 1. Mutações mitocondriais associadas a défice auditivo

<i>Gene</i>	<i>Mutação</i>	<i>Manifestações</i>	<i>Ototoxicidade</i>	<i>Referências</i>
			<i>Aminoglicosídea</i>	
<i>ARN 12S</i>	A1555G	Défice Auditivo Não Sindrómico	+	(51,61–63)
	C1494T	Défice auditivo não sindrómico	+	(64,65)
	T1095C	Défice auditivo não sindrómico ou associado a parkinsonismo, e neuropatia	+	(66)
	A827G	Défice auditivo não sindrómico	+	(67–70)
<i>ARNt</i>				
<i>ARNt^{Ser(UCN)}</i>	A7445G	Défice auditivo não sindrómico ou associado a queratodermia	-	(54,71)
	7471dupC	Défice auditivo não sindrómico ou associado a disfunção neurológica	-	(41)
	T7510C	Défice auditivo não sindrómico	-	(72)
	T7511C	Défice auditivo não sindrómico	-	(73–75)
	T7512C	Epilepsia mioclónica progressiva, ataxia e défice auditivo	-	(76)
	G7444A	Défice auditivo não sindrómico	+	(63,77)
<i>ARNt^{Leu(UUR)}</i>	A3243G	MELAS e MIDD	-	(78)
	C3256T	MERRF	-	(79)
<i>ARNt^{Lis}</i>	A8344G	MERRF	-	(80)
	T8356C	MERRF	-	(81)

Tabela 1. Mutações mitocondriais associadas a défice auditivo (continuação)

<i>Gene</i>	<i>Mutação</i>	<i>Manifestações</i>	<i>Ototoxicidade</i> <i>Aminoglicosídea</i>	<i>Referências</i>
<i>ARNt^{Glu}</i>	A8296G	MIDD	-	(82)
	T14709C	MIDD	-	(83,84)
Vários	Deleções	KSS	-	(85)
Vários	Deleções/Duplicações	MIDD	-	(86)
Vários	Aleatório	Presbiacusia	-	(87)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os que, direta ou indiretamente, contribuíram para que este trabalho fosse realizado, em particular ao Professor Dr. Óscar Dias e ao Dr. Marco Simão pelo acompanhamento ao longo deste percurso, pela transmissão de conhecimentos e pela sua capacidade de simplificação e pragmatismo. Um agradecimento final à minha família e amigos que demonstram diariamente um apoio incondicional a todos os níveis.

BIBLIOGRAFIA

1. Ding Y, Leng J, Fan F, Xia B, Xu P. The Role of Mitochondrial DNA Mutations in Hearing Loss. *Biochem Genet.* Agosto de 2013;51(7–8):588–602.
2. Sani MM, Mehri-Ghahfarrokhi A, Ahmadi H, Shojaeian A, Hashemzadeh-Chaleshtori M, Mahdavinezhad A, et al. Study of common mitochondrial mutations in patients with nonsyndromic hearing loss. 2017;67(2):7.
3. Marazita ML, Ploughman LM, Rawlings B, Remington E, Arnos KS, Nance WE. Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the U.S. school-age population. *Am J Med Genet.* 15 de Junho de 1993;46(5):486–91.
4. Attardi G, Schatz G. Biogenesis of mitochondria. *Annu Rev Cell Biol.* 1988;4:289–333.
5. Kokotas H, Petersen M, Willems P. Mitochondrial deafness. *Clin Genet.* 2 de Maio de 2007;71(5):379–91.
6. Reichert AS, Neupert W. Contact sites between the outer and inner membrane of mitochondria-role in protein transport. *Biochim Biophys Acta.* 2 de Setembro de 2002;1592(1):41–9.
7. Riva A, Loffredo F, Uccheddu A, Riva FT, Tandler B. Mitochondria of human adrenal cortex have tubular cristae with bulbous tips. *J Clin Endocrinol Metab.* Abril de 2003;88(4):1903–6.
8. Kanungo S, Morton J, Neelakantan M, Ching K, Saeedian J, Goldstein A. Mitochondrial disorders. *Ann Transl Med.* Dezembro de 2018;6(24):475–475.
9. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MHL, Coulson AR, Drouin J, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature.* Abril de 1981;290(5806):457–65.
10. Greaves LC, Taylor RW. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *IUBMB Life.* Março de 2006;58(3):143–51.
11. Holt IJ, Harding AE, Morgan-Hughes JA. Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature.* 25 de Fevereiro de 1988;331(6158):717–9.
12. Zeviani M, Antozzi C. Mitochondrial disorders. *Mol Hum Reprod.* Fevereiro de 1997;3(2):133–48.
13. Tuppen HAL, Blakely EL, Turnbull DM, Taylor RW. Mitochondrial DNA mutations and human disease. *Biochim Biophys Acta.* Fevereiro de 2010;1797(2):113–28.

14. Mao C-C, Holt IJ. Clinical and molecular aspects of diseases of mitochondrial DNA instability. *Chang Gung Med J*. Agosto de 2009;32(4):354–69.
15. Wallace DC, Ye JH, Neckelmann SN, Singh G, Webster KA, Greenberg BD. Sequence analysis of cDNAs for the human and bovine ATP synthase beta subunit: mitochondrial DNA genes sustain seventeen times more mutations. *Curr Genet*. 1987;12(2):81–90.
16. Bachtrog D. Adaptation shapes patterns of genome evolution on sexual and asexual chromosomes in *Drosophila*. *Nat Genet*. Junho de 2003;34(2):215–9.
17. Forster L, Forster P, Lutz-Bonengel S, Willkomm H, Brinkmann B. Natural radioactivity and human mitochondrial DNA mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 15 de Outubro de 2002;99(21):13950–4.
18. de Grey ADNJ. Reactive oxygen species production in the mitochondrial matrix: implications for the mechanism of mitochondrial mutation accumulation. *Rejuvenation Res*. 2005;8(1):13–7.
19. Rossignol R, Faustin B, Rocher C, Malgat M, Mazat J-P, Letellier T. Mitochondrial threshold effects. *Biochem J*. 15 de Março de 2003;370(Pt 3):751–62.
20. Dimauro S, Davidzon G. Mitochondrial DNA and disease. *Ann Med*. 2005;37(3):222–32.
21. Guan MX, Fischel-Ghodsian N, Attardi G. Nuclear background determines biochemical phenotype in the deafness-associated mitochondrial 12S rRNA mutation. *Hum Mol Genet*. 15 de Março de 2001;10(6):573–80.
22. Sudoyo H, Suryadi H, Lertrit P, Pramoonjago P, Lyrawati D, Marzuki S. Asian-specific mtDNA backgrounds associated with the primary G11778A mutation of Leber's hereditary optic neuropathy. *J Hum Genet*. 2002;47(11):594–604.
23. Sato M, Sato K. Maternal inheritance of mitochondrial DNA by diverse mechanisms to eliminate paternal mitochondrial DNA. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Cell Res*. 1 de Agosto de 2013;1833(8):1979–84.
24. Holland MM, Parsons TJ. Mitochondrial DNA Sequence Analysis - Validation and Use for Forensic Casework. *Forensic Sci Rev*. Junho de 1999;11(1):21–50.
25. Pakendorf B, Stoneking M. Mitochondrial DNA and human evolution. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2005;6:165–83.
26. Jacobs HT, Hutchin TP, Käppi T, Gillies G, Minkkinen K, Walker J, et al. Mitochondrial DNA mutations in patients with postlingual, nonsyndromic hearing impairment. *Eur J Hum Genet*. Janeiro de 2005;13(1):26–33.
27. Morton CC, Nance WE. Newborn hearing screening--a silent revolution. *N Engl J Med*. 18 de Maio de 2006;354(20):2151–64.

28. Chinnery PF, Elliott C, Green GR, Rees A, Coulthard A, Turnbull DM, et al. The spectrum of hearing loss due to mitochondrial DNA defects. *Brain J Neurol.* Janeiro de 2000;123 (Pt 1):82–92.
29. Kullar PJ, Quail J, Lindsey P, Wilson JA, Horvath R, Yu-Wai-Man P, et al. Both mitochondrial DNA and mitonuclear gene mutations cause hearing loss through cochlear dysfunction. *Brain J Neurol.* 2016;139(Pt 6):e33.
30. Ceranić B, Luxon LM. Progressive auditory neuropathy in patients with Leber's hereditary optic neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* Abril de 2004;75(4):626–30.
31. El-Hattab AW, Scaglia F. Mitochondrial DNA Depletion Syndromes: Review and Updates of Genetic Basis, Manifestations, and Therapeutic Options. *Neurotherapeutics.* Abril de 2013;10(2):186–98.
32. Kearns-Sayre Syndrome: Background, Pathophysiology, Epidemiology. 4 de Janeiro de 2019 [citado 16 de Março de 2019]; Disponível em: <https://emedicine.medscape.com/article/950897-overview>
33. Goldstein A, Falk MJ. Mitochondrial DNA Deletion Syndromes. Em: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Stephens K, et al., editores. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [citado 16 de Março de 2019]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1203/>
34. Chinnery PF. Mitochondrial Disorders Overview. Em: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Stephens K, et al., editores. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [citado 16 de Março de 2019]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1224/>
35. A juvenile case of MELAS with T3271C mitochondrial DNA mutation. - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 19 de Março de 2019]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16006433>
36. El-Hattab AW, Almannai M, Scaglia F. MELAS. Em: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Stephens K, et al., editores. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [citado 18 de Março de 2019]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1233/>
37. DiMauro S, Hirano M. MERRF. Em: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Stephens K, et al., editores. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [citado 19 de Março de 2019]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1520/>
38. Reference GH. MIDD [Internet]. Genetics Home Reference. [citado 19 de Março de 2019]. Disponível em: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/maternally-inherited-diabetes-and-deafness>

39. Naing A, Kenchaiah M, Krishnan B, Mir F, Charnley A, Egan C, et al. Maternally inherited diabetes and deafness (MIDD): diagnosis and management. *J Diabetes Complications*. Agosto de 2014;28(4):542–6.
40. Finsterer J, Frank M. The Tip of the Iceberg in Maternally Inherited Diabetes and Deafness. *Oman Med J*. Setembro de 2018;33(5):437–40.
41. Usami S, Nishio S. Nonsyndromic Hearing Loss and Deafness, Mitochondrial. Em: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Stephens K, et al., editores. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [citado 19 de Março de 2019]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1422/>
42. Scarpelli M, Zappini F, Filosto M, Russignan A, Tonin P, Tomelleri G. Mitochondrial Sensorineural Hearing Loss: A Retrospective Study and a Description of Cochlear Implantation in a MELAS Patient. *Genet Res Int* [Internet]. 2012 [citado 26 de Março de 2019];2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3335728/>
43. Usami S-I, Miyagawa M, Nishio S-Y, Moteki H, Takumi Y, Suzuki M, et al. Patients with CDH23 mutations and the 1555A>G mitochondrial mutation are good candidates for electric acoustic stimulation (EAS). *Acta Otolaryngol (Stockh)*. Abril de 2012;132(4):377–84.
44. Bravo O, Ballana E, Estivill X. Cochlear alterations in deaf and unaffected subjects carrying the deafness-associated A1555G mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 2 de Junho de 2006;344(2):511–6.
45. Yelverton JC, Dodson KM, Arnos K, Pandya A. The clinical and audiologic features of hearing loss due to mitochondrial mutations: response to editor. *Otolaryngol--Head Neck Surg Off J Am Acad Otolaryngol-Head Neck Surg*. Novembro de 2013;149(5):795–6.
46. Mitochondrial haplotypes may modulate the phenotypic manifestation of the deafness-associated 12S rRNA 1555A>G mutation. - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 23 de Março de 2019]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19818876>
47. Zhu Y, Huang S, Kang D, Han M, Wang G, Yuan Y, et al. Analysis of the heteroplasmy level and transmitted features in hearing-loss pedigrees with mitochondrial 12S rRNA A1555G mutation. *BMC Genet*. 17 de Fevereiro de 2014;15:26.
48. Nye JS, Hayes EA, Amendola M, Vaughn D, Charrow J, McLone DG, et al. Myelocystocele-cloacal exstrophy in a pedigree with a mitochondrial 12S rRNA mutation, aminoglycoside-induced deafness, pigmentary disturbances, and spinal anomalies. *Teratology*. Março de 2000;61(3):165–71.
49. Ealy M, Lynch KA, Meyer NC, Smith RJH. The prevalence of mitochondrial mutations associated with aminoglycoside-induced sensorineural hearing loss in an NICU population. *The Laryngoscope*. Junho de 2011;121(6):1184–6.

50. Bykhovskaya Y, Shohat M, Ehrenman K, Johnson D, Hamon M, Cantor RM, et al. Evidence for complex nuclear inheritance in a pedigree with nonsyndromic deafness due to a homoplasmic mitochondrial mutation. *Am J Med Genet.* 5 de Junho de 1998;77(5):421–6.
51. Estivill X, Govea N, Barceló E, Badenas C, Romero E, Moral L, et al. Familial progressive sensorineural deafness is mainly due to the mtDNA A1555G mutation and is enhanced by treatment of aminoglycosides. *Am J Hum Genet.* Janeiro de 1998;62(1):27–35.
52. Ding Y, Li Y, You J, Yang L, Chen B, Lu J, et al. Mitochondrial tRNA(Glu) A14693G variant may modulate the phenotypic manifestation of deafness-associated 12S rRNA A1555G mutation in a Han Chinese family. *J Genet Genomics Yi Chuan Xue Bao.* Abril de 2009;36(4):241–50.
53. Fischel-Ghodsian N, Prezant TR, Chaltraw WE, Wendt KA, Nelson RA, Arnos KS, et al. Mitochondrial gene mutation is a significant predisposing factor in aminoglycoside ototoxicity. *Am J Otolaryngol.* Junho de 1997;18(3):173–8.
54. Tiranti V, Chariot P, Carella F, Toscano A, Soliveri P, Girlanda P, et al. Maternally inherited hearing loss, ataxia and myoclonus associated with a novel point mutation in mitochondrial tRNA^{Ser}(UCN) gene. *Hum Mol Genet.* Agosto de 1995;4(8):1421–7.
55. Zhu Y, Qian Y, Tang X, Wang J, Yang L, Liao Z, et al. Aminoglycoside-induced and non-syndromic hearing loss is associated with the G7444A mutation in the mitochondrial COI/tRNA^{Ser}(UCN) genes in two Chinese families. *Biochem Biophys Res Commun.* 14 de Abril de 2006;342(3):843–50.
56. Rydzanicz M, Cywińska K, Wróbel M, Pollak A, Gawęcki W, Wojsyk-Banaszak I, et al. The contribution of the mitochondrial COI/tRNA(Ser(UCN)) gene mutations to non-syndromic and aminoglycoside-induced hearing loss in Polish patients. *Mol Genet Metab.* Outubro de 2011;104(1–2):153–9.
57. Pandya A, Xia XJ, Erdenetungalag R, Amendola M, Landa B, Radnaabazar J, et al. Heterogenous point mutations in the mitochondrial tRNA Ser(UCN) precursor coexisting with the A1555G mutation in deaf students from Mongolia. *Am J Hum Genet.* Dezembro de 1999;65(6):1803–6.
58. Tang X, Zheng J, Ying Z, Cai Z, Gao Y, He Z, et al. Mitochondrial tRNA^{Ser}(UCN) variants in 2651 Han Chinese subjects with hearing loss. *Mitochondrion.* 1 de Julho de 2015;23:17–24.
59. Chen K, Zong L, Liu M, Wang X, Zhou W, Zhan Y, et al. Developing regional genetic counseling for southern Chinese with nonsyndromic hearing impairment: a unique mutational spectrum. *J Transl Med.* 11 de Março de 2014;12:64.
60. Kokotas H, Grigoriadou M, Korres GS, Ferekidou E, Kandiloros D, Korres S, et al. Screening of a Greek deafness population for the A7445G mitochondrial DNA mutation. *Mol Genet Metab.* Julho de 2010;100(3):300–1.

61. Prezant TR, Agopian JV, Bohlman MC, Bu X, Oztas S, Qiu WQ, et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet.* Julho de 1993;4(3):289–94.
62. al MG et. Non-syndromic deafness associated with a mutation and a polymorphism in the mitochondrial 12S ribosomal RNA gene in a large Zairean pedigree. - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 27 de Março de 2019]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8800928>
63. Pandya A, Xia X, Radnaabazar J, Batsuuri J, Dangaansuren B, Fischel-Ghodsian N, et al. Mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene in two families from Mongolia with matrilineal aminoglycoside ototoxicity. *J Med Genet.* Fevereiro de 1997;34(2):169–72.
64. Zhao H, Li R, Wang Q, Yan Q, Deng J-H, Han D, et al. Maternally inherited aminoglycoside-induced and nonsyndromic deafness is associated with the novel C1494T mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene in a large Chinese family. *Am J Hum Genet.* Janeiro de 2004;74(1):139–52.
65. Wang Q, Li Q-Z, Han D, Zhao Y, Zhao L, Qian Y, et al. Clinical and molecular analysis of a four-generation Chinese family with aminoglycoside-induced and nonsyndromic hearing loss associated with the mitochondrial 12S rRNA C1494T mutation. *Biochem Biophys Res Commun.* 10 de Fevereiro de 2006;340(2):583–8.
66. Thyagarajan D, Bressman S, Bruno C, Przedborski S, Shanske S, Lynch T, et al. A novel mitochondrial 12SrRNA point mutation in parkinsonism, deafness, and neuropathy. *Ann Neurol.* Novembro de 2000;48(5):730–6.
67. Li R. Molecular analysis of the mitochondrial 12S rRNA and tRNA^{Ser}(UCN) genes in paediatric subjects with non-syndromic hearing loss. *J Med Genet.* 1 de Agosto de 2004;41(8):615–20.
68. Li Z, Li R, Chen J, Liao Z, Zhu Y, Qian Y, et al. Mutational analysis of the mitochondrial 12S rRNA gene in Chinese pediatric subjects with aminoglycoside-induced and non-syndromic hearing loss. *Hum Genet.* Junho de 2005;117(1):9–15.
69. Xing G, Chen Z, Wei Q, Tian H, Li X, Zhou A, et al. Maternally inherited non-syndromic hearing loss associated with mitochondrial 12S rRNA A827G mutation in a Chinese family. *Biochem Biophys Res Commun.* 16 de Junho de 2006;344(4):1253–7.
70. Xing G, Chen Z, Wei Q, Tian H, Li X, Zhou A, et al. Mitochondrial 12S rRNA A827G mutation is involved in the genetic susceptibility to aminoglycoside ototoxicity. *Biochem Biophys Res Commun.* 11 de Agosto de 2006;346(4):1131–5.
71. Seviour KB, Hatamochi A, Stewart IA, Bykhovskaya Y, Allen-Powell DR, Fischel-Ghodsian N, et al. Mitochondrial A7445G mutation in two pedigrees with palmoplantar keratoderma and deafness. *Am J Med Genet.* 13 de Janeiro de 1998;75(2):179–85.

72. Hutchin TP, Parker MJ, Young ID, Davis AC, Pulleyn LJ, Deeble J, et al. A novel mutation in the mitochondrial tRNA(Ser(UCN)) gene in a family with non-syndromic sensorineural hearing impairment. *J Med Genet*. Setembro de 2000;37(9):692–4.
73. Friedman RA, Bykhovskaya Y, Sue CM, DiMauro S, Bradley R, Fallis-Cunningham R, et al. Maternally inherited nonsyndromic hearing loss. *Am J Med Genet*. 4 de Junho de 1999;84(4):369–72.
74. Sue CM, Tanji K, Hadjigeorgiou G, Andreu AL, Nishino I, Krishna S, et al. Maternally inherited hearing loss in a large kindred with a novel T7511C mutation in the mitochondrial DNA tRNA(Ser(UCN)) gene. *Neurology*. 10 de Junho de 1999;52(9):1905–8.
75. Ishikawa K, Tamagawa Y, Takahashi K, Kimura H, Kusakari J, Hara A, et al. Nonsyndromic hearing loss caused by a mitochondrial T7511C mutation. *The Laryngoscope*. Agosto de 2002;112(8 Pt 1):1494–9.
76. Jaksch M, Klopstock T, Kurlemann G, Dörner M, Hofmann S, Kleinle S, et al. Progressive myoclonus epilepsy and mitochondrial myopathy associated with mutations in the tRNA(Ser(UCN)) gene. *Ann Neurol*. Outubro de 1998;44(4):635–40.
77. Yuan H, Qian Y, Xu Y, Cao J, Bai L, Shen W, et al. Cosegregation of the G7444A mutation in the mitochondrial COI/tRNA(Ser(UCN)) genes with the 12S rRNA A1555G mutation in a Chinese family with aminoglycoside-induced and nonsyndromic hearing loss. *Am J Med Genet A*. 1 de Outubro de 2005;138A(2):133–40.
78. van den Ouweland JM, Lemkes HH, Ruitenbeek W, Sandkuijl LA, de Vijlder MF, Struyvenberg PA, et al. Mutation in mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) gene in a large pedigree with maternally transmitted type II diabetes mellitus and deafness. *Nat Genet*. Agosto de 1992;1(5):368–71.
79. Finsterer J, Fellingner J. Nuclear and mitochondrial genes mutated in nonsyndromic impaired hearing. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. Maio de 2005;69(5):621–47.
80. Shoffner JM, Wallace DC. Oxidative phosphorylation diseases. Disorders of two genomes. *Adv Hum Genet*. 1990;19:267–330.
81. Zeviani M, Muntoni F, Savarese N, Serra G, Tiranti V, Carrara F, et al. A MERRF/MELAS overlap syndrome associated with a new point mutation in the mitochondrial DNA tRNA(Lys) gene. *Eur J Hum Genet EJHG*. 1993;1(1):80–7.
82. Kameoka K, Isotani H, Tanaka K, Azukari K, Fujimura Y, Shiota Y, et al. Novel mitochondrial DNA mutation in tRNA(Lys) (8296A-->G) associated with diabetes. *Biochem Biophys Res Commun*. 17 de Abril de 1998;245(2):523–7.
83. Hao H, Bonilla E, Manfredi G, DiMauro S, Moraes CT. Segregation patterns of a novel mutation in the mitochondrial tRNA glutamic acid gene associated with myopathy and diabetes mellitus. *Am J Hum Genet*. Maio de 1995;56(5):1017–25.

84. Rigoli L, Prisco F, Caruso RA, Iafusco D, Ursomanno G, Zuccarello D, et al. Association of the T14709C mutation of mitochondrial DNA with maternally inherited diabetes mellitus and/or deafness in an Italian family. *Diabet Med J Br Diabet Assoc*. Abril de 2001;18(4):334–6.
85. Zeviani M, Moraes CT, DiMauro S, Nakase H, Bonilla E, Schon EA, et al. Deletions of mitochondrial DNA in Kearns-Sayre syndrome. *Neurology*. Setembro de 1988;38(9):1339–46.
86. Ballinger SW, Shoffner JM, Hedaya EV, Trounce I, Polak MA, Koontz DA, et al. Maternally transmitted diabetes and deafness associated with a 10.4 kb mitochondrial DNA deletion. *Nat Genet*. Abril de 1992;1(1):11–5.
87. Fischel-Ghodsian N. Mitochondrial deafness mutations reviewed. *Hum Mutat*. 1999;13(4):261–70.